

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO ESPECIALIZAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS**

**ANNE MARY DESTRO**

**CÉLULAS-TRONCO DE CORDÃO UMBILICAL E TECIDO PLACENTÁRIO:  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DIRECIONADA A COLETA E PRESERVAÇÃO.**

**CRICIÚMA**  
**2012**

**ANNE MARY DESTRO**

**CÉLULAS-TRONCO DE CORDÃO UMBILICAL E TECIDO PLACENTÁRIO:  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DIRECIONADA A COLETA E PRESERVAÇÃO.**

Monografia apresentada à Diretoria de Pós-graduação da Universidade do Extremo Sul Catarinense- UNESC, para a obtenção do título de especialista em Análises Clínicas.

Orientador: Prof. Msc. Fernanda de Paris.

**CRICIÚMA**

**2012**

**Dedico esta obra ao meu amado irmão que partiu desta vida precocemente, mas deixou lições de vida que serão eternamente lembradas por mim e por aqueles que conheceram seu encantador e sincero sorriso. “Tu és verdadeiramente o meu amor incondicional”.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me iluminar e me guiar pelos bons caminhos da vida, e por me ajudar a alcançar meus objetivos mesmo diante das dificuldades. Obrigada Senhor.

Aos meus pais, que me mostraram a importância de construir um lar baseado no amor e respeito. Obrigada a vocês que me ensinaram as primeiras letras, que hoje se refletem neste trabalho. Amo vocês.

Ao meu marido, pela paciência e incentivo na realização deste trabalho, mesmo quando precisei passar dias fora de casa para estudar e escrever. Obrigada por estar ao meu lado nesta jornada da vida. Amo-o a cada dia mais.

A minha princesinha Valentina, que me mostrou nestes poucos meses de vida, qual é o significado de um sorriso mesmo sem dizer sequer uma palavra. Obrigada minha gatinha, por me fazer compreender qual é o verdadeiro sentido da vida, a mamãe te ama mais do que poderia imaginar que fosse possível.

A minha orientadora e professora Msc. Fernanda, pela paciência e dedicação ao me ajudar a produzir este trabalho. Obrigada por transferir para mim parte do seu conhecimento e por me ajudar a realizar o desejo de produzir esta monografia.

Aos amigos e colegas que fiz ao longo do curso de pós-graduação, que tornaram cada aula mais interessante e animada mesmo após exaustivos dias de trabalho e aprendizado.

**“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.”**

**Theodore Roosevelt**

## RESUMO

As células-tronco são células capazes de se dividir e se auto-renovar indefinidamente. O uso destas células tem por objetivo tratar doenças e lesões por meio da substituição de células doentes por saudáveis. Enfermidades como leucemias mielóide crônica e linfocítica, síndrome mielodisplásica, mielomas, linfomas de Hodgkin's e não-Hodgkin's, alguns tumores, hemoglobinopatias, erros inatos do metabolismo e doenças auto-imunes podem ser tratadas com o transplante de células-tronco. Uma das fontes onde podem ser encontradas é no cordão umbilical e tecido placentário. O cordão umbilical humano é uma conexão entre a mãe e o feto. É composto por duas artérias e uma veia. A amostra de sangue de cordão é coletada dos vasos umbilicais e placenta independente se o parto for cesáreo ou vaginal. Uma propriedade de extrema importância para o uso destas células progenitoras hematopoiéticas do sangue de cordão é a sua pequena habilidade em induzir reação imunológica contra o receptor. No entanto, o uso das células-tronco hematopoiéticas obtidas do sangue do cordão umbilical é limitado pelo número de células que podem ser coletadas e infundidas no receptor. Para facilitar e aumentar o número de transplantes tem sido feito o uso de múltiplos cordões umbilicais. Os processos envolvidos desde a coleta até o armazenamento nos bancos de cordão umbilical e placenta são de extrema importância para a obtenção do sucesso na remissão da doença do paciente transplantado. Por meio de revisão bibliográfica foram estudadas neste trabalho as etapas envolvidas na coleta e armazenamento de células-tronco oriundas de sangue de cordão umbilical e tecido placentário. Após a coleta o sangue deve ser rotulado e armazenado em temperatura controlada até ser transportado em caixas adequadas para o laboratório de processamento. O sangue do cordão umbilical deve ser coletado logo após o nascimento da criança, processado e criopreservado até o momento do seu uso. O armazenamento das células-tronco de cordão umbilical é feito em bancos regularizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Existem dois tipos de bancos para armazenamento de sangue de cordão umbilical e tecido placentário, os públicos e os privados. Nos bancos públicos as amostras são obtidas por doação e ficam disponíveis para o uso da população em geral. Os bancos privados destinam-se exclusivamente ao uso autólogo não sendo necessário cumprir tantas exigências quanto no sistema público. É de extrema importância que novas unidades de armazenamento sejam abertas e que a população e até mesmo profissionais de saúde tenham um maior conhecimento sobre o uso das células-tronco de cordão e tecido placentário.

**Palavras-chave:** Células-tronco; Cordão umbilical; Transplante de células-tronco; Bancos de sangue de cordão umbilical e tecido placentário; Coleta de sangue umbilical; Armazenamento de sangue umbilical.

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
1.1 CÉLULAS-TRONCO E SUAS CARACTERÍSTICAS.....	7
1.2 UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO EM TRANSPLANTES.....	10
<b>1.2.1 Histórico do uso de células-tronco para transplantes.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2.2 Transplantes de células-tronco .....</b>	<b>11</b>
1.2.3 Transplantes de células-tronco de cordão umbilical e placentário .....	13
<b>2.0 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO E OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
<b>3.0 COLETA, PROCESSAMENTO E PRESERVAÇÃO DE CÉLULAS DE CORDÃO UMBILICAL.....</b>	<b>17</b>
<b>4.0 BANCOS DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO .....</b>	<b>20</b>
<b>5.0 LEGISLAÇÃO E BIOÉTICA .....</b>	<b>24</b>
<b>6.0 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>31</b>
ANEXO A - MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA DOAÇÃO DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO .....	32
ANEXO B – RDC 56/2010 – REPRODUÇÃO PARCIAL.....	35
ANEXO C – RDC 153/2004 – REPRODUÇÃO PARCIAL.....	39

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1 CÉLULAS-TRONCO E SUAS CARACTERÍSTICAS

Todas as células-tronco possuem três características principais que as diferencia dos outros tipos celulares. Primeiro, são células indiferenciadas e não especializadas. Além disso, são células capazes de se dividir e se auto-renovar indefinidamente. E por último, possuem capacidade de se diferenciar em células especializadas quando submetidas a certas condições específicas sejam fisiológicas ou experimentais (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009). Estas células podem ser divididas quanto a sua capacidade de diferenciação em três tipos: as totipotentes, as pluripotente e as multipotentes. As primeiras resultam das divisões celulares ocorridas após a fecundação do óvulo pelo espermatozóide e são capazes de se diferenciar nas mais diversas células dando origem a todos os tecidos do embrião. Com o passar do tempo as células totipotentes passam a se dividir em células com capacidade mais limitada na sua diferenciação, são as chamadas células pluripotentes. Depois surgem as células multipotentes que são responsáveis pela formação de tecidos mais específicos e que futuramente darão origem as células-tronco adultas (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

Outra divisão utilizada é a de células-tronco adultas e embrionárias. As células-tronco adultas são também chamadas de células-tronco hematopoiéticas cujas principais fontes são a medula óssea e as células de cordão umbilical. Por sua vez, as células-tronco embrionárias são aquelas oriundas de tecido embrionário especificamente da fase blastocística que compreende entre o quarto e quinto dia após a fecundação, mas ainda antes da implantação no útero que ocorre por volta do sexto dia após a fecundação (SEGURA *et al.*, 2007).

Sabe-se que existem quatro fontes de onde podem ser extraídas células-tronco. A primeira delas é a partir de embriões humanos de onde são retiradas “células mãe de transição” (totipotentes) que se transformam e se multiplicam originando todos os tecidos do embrião. A segunda fonte trata-se de embriões clonados especificamente para esta finalidade. Esta técnica reduz bastante o risco de rejeição. Em ambos os casos após seu uso os embriões são descartados. A terceira fonte está no sangue de cordão umbilical e a última em tecidos adultos



como na medula óssea, chamadas células-tronco hematopoiéticas (SEGURA *et al.*, 2007).

As células-tronco hematopoiéticas (CTH) são encontradas de maneira rara na medula óssea de mamíferos adultos (em torno de 0,01% a 0,05%), e no sangue periférico de maneira ainda mais escassa (aproximadamente 0,001%). Outras fontes de células-tronco hematopoiéticas também são o fígado fetal, sangue de cordão umbilical e tecido placentário (ABDELHAY *et al.*, 2009).

As células-tronco hematopoiéticas podem ser divididas em três tipos: a) células-tronco hematopoiéticas com capacidade de auto-renovação a longo prazo (LT-CTH), b) células-tronco hematopoiética com capacidade a curto prazo (CT-CTH) e c) progenitores multilinhagem (PM) aparentemente com capacidade nula de se auto-renovar. As LT-CTH são consideradas capazes de se renovar indiscriminadamente sendo, portanto responsáveis pela repopulação de todo o sistema hematopoiético. Já as CT-CTH e as PM até podem produzir novas células hematopoiéticas, mas apenas conseguem fazê-lo em curto prazo (ABDELHAY *et al.*, 2009).

Essa característica que as células-tronco possuem em diferenciar-se nos mais diferentes tipos teciduais é conhecida por plasticidade, que neste caso deve-se ao fato do blastocisto ser capaz de originar todas as células e tecidos e por conseqüência órgãos do corpo humano. No embrião em desenvolvimento as células-tronco darão origem às células especializadas que irão formar os mais variados tecidos humanos. No entanto, mesmo após a formação alguns tecidos adultos como músculo, medula óssea e cérebro continuam a terem células-tronco capazes de gerar novas células com o intuito de reposição para células que forem perdidas pelo mau funcionamento do organismo (SEGURA *et al.*, 2007).

De forma resumida, pode-se dizer que as células-tronco em diferentes estágios de desenvolvimento possuem características específicas quanto a capacidade de renovação e diferenciação. Desta maneira as células-tronco embrionárias são as mais indiferenciadas sendo capazes de gerar qualquer tecido. Já as células-tronco hematopoiéticas possuem capacidade mais limitada e menor na renovação celular (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

As células-tronco de cordão umbilical utilizadas para transplantes apresentam algumas vantagens quando comparadas àquelas retiradas da medula

óssea. São células mais jovens e por este motivo ainda não sofreram exposição a vírus, bactérias e ao meio ambiente quando comparadas às células-tronco da medula óssea de um adulto. As células-tronco de cordão umbilical de um bebê são totalmente compatíveis com ele, evitando assim a demora ou insucesso para encontrar um doador quando se usam células-tronco de medula óssea. Outro fator trata-se da coleta, onde se torna necessário uma técnica invasiva para a coleta das células da medula óssea, enquanto para a extração das células do cordão umbilical o procedimento é bem mais simples e indolor (SEGURA *et al.*, 2007).

Células-tronco de sangue periférico também podem ser coletas, apesar de ser encontrado um pequeno número circulante. Por este motivo são utilizados fatores de crescimento hematopoiético ou fator estimulante de colônia, forçando assim a mobilização das células da medula óssea para a corrente circulatória (MESTRE *et al.*, 2010).

As células-tronco mesenquimais estão presentes na medula óssea e também no sangue de cordão umbilical e sua principal função terapêutica está na regeneração de diversos órgãos e tecidos, inclusive no tecido hematopoiético (GOMES; PRANKE, 2008; CASTELO-BRANCO *et al.*, 2003). De acordo com Cruz e colaboradores (2009) as células-tronco mesenquimais possuem alto potencial de renovação e se diferenciam em osteoblastos, condrócitos, adipócitos e células musculares lisas. Acredita-se ainda que estas células possuam atividade antiinflamatória e anti-modulatória (CRUZ *et al.*, 2009).

Tanto quanto as células-tronco hematopoiéticas, as células-tronco mesenquimais de sangue de cordão umbilical e placenta, possuem um potencial proliferativo quatro vezes maior quando comparado as células-tronco mesenquimais de medula óssea e tecido adiposo (CRUZ *et al.*, 2009).

Além de células-tronco ou células estaminais hematopoiéticas, o sangue de cordão umbilical também possui células progenitoras endoteliais (serão responsáveis pela constituição dos vasos sanguíneos), células estaminais mesenquimais (que originarão células ósseas, cartilaginárias, musculares e tecido adiposo), células USSC (*unrestricted somatic stem cells* denominadas como células estaminais mesenquimais mais primitivas), células estaminais *embryonic-like* (capazes de originar células com características das três linhas germinativas

ectoderme, mesoderme e endoderme que formarão respectivamente células neurais, sanguíneas e hepáticas) (CABELEIRA *et al.*, 2010).

Segundo Kawasaki-Oyama e colaboradores (2008) a comprovação da presença das células-tronco mesenquimais no sangue de cordão, a diferenciação e a proliferação destas células progenitoras, faz com que o sangue de cordão umbilical seja uma fonte celular para terapia de doenças tidas até então como incuráveis (KAWASAKI-OYAMA *et al.*, 2008).

## 1.2 UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO EM TRANSPLANTES

### 1.2.1 Histórico do uso de células tronco para transplantes

Os primeiros relatos do uso de fontes de células-tronco hematopoiéticas para uso de transfusão sanguínea surgiram na Segunda Guerra Mundial, cuja fonte especificamente era sangue provindo de tecido placentário. Por volta de 1959 foi realizado o primeiro transplante de medula óssea para o tratamento de um paciente submetido à irradiação corporal na tentativa de cura de um quadro de leucemia. Para este feito foram utilizadas células provenientes da irmã gêmea do paciente adoentado. O responsável pelo transplante foi o pesquisador Edward Donnall Thomas (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

Segundo Castro Júnior e colaboradores (2001), Edward Donnall Thomas realizou este transplante em Seattle - EUA e o procedimento utilizado serve como modelo até hoje. Este feito garantiu a ele o Prêmio Nobel de Medicina em 1990 (CASTRO JÚNIOR *et al.*, 2001).

No entanto, apenas em 1963, é que as células-tronco hematopoiéticas foram melhor caracterizadas por um grupo de estudiosos que incluía James Till, Ernest McCulloch e Lou Siminovitch. Nesta mesma época soube-se sobre os genes do complexo de histocompatibilidade humano (HLA) possibilitando mais tarde a realização dos transplantes alogênicos (SILVA JUNIOR *et al.*, 2009).

Durante anos a medula óssea foi utilizada como fonte de células-tronco hematopoiéticas para transplantes em pacientes portadores das mais diferentes doenças hematológicas, fossem elas malignas ou não. Atualmente surge como

alternativa o uso das células-tronco de cordão umbilical e placenta (SENEGAGLIA *et al.*, 2009).

Em 1982 Edward A. Boyse, Hal E. Broxmeyer e Judith Bard sugerem que o sangue de cordão umbilical seja uma fonte de células progenitoras hematopoiéticas (PEDRASSA; HAMERSCHLAK, 2008).

A pioneira no uso das células do cordão umbilical por meio de transplante foi a doutora Eliane Gluckman e sua equipe que realizaram o transplante destas células colhidas do cordão umbilical de uma paciente para tratar de seu irmão, um paciente que sofria com as complicações da anemia de Falconi. Este fato ocorreu no hospital de Saint-Louis na França em 1988, e o procedimento foi considerado um sucesso total (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009). A criança que na época tinha 5 anos teve uma enxertia durável e sobreviveu sem manifestações hematológicas da doença tratada (PEDRASSA; HAMERSCHLAK, 2008).

No Brasil o primeiro transplante de célula-tronco hematopoiética entre doador e receptor não aparentado aconteceu em 2004, e foi realizado pela equipe do Centro de Transplante de Medula Óssea do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

### **1.2.2 Transplantes de células-tronco**

O uso de células tronco tem por objetivo tratar doenças e lesões através da substituição das células doentes por células saudáveis. O exemplo mais claro deste uso esta no transplante de medula óssea em pacientes com leucemia. Neste caso as células da medula óssea do doador repovoam a medula óssea do receptor e fabricam novas células sanguíneas sadias (SEGURA *et al.*, 2007).

Segundo Castro Júnior e colaboradores (2001) o transplante de medula óssea consiste na infusão intravenosa de células progenitoras do tecido hematopoiético com o intuito de restabelecer a função medular normal em pacientes com a medula óssea danificada ou defeituosa (CASTRO JÚNIOR *et al.*, 2001).

O transplante de células-tronco pode ser singênico, onde as células sanguíneas recebidas são provenientes de um irmão gêmeo univitelínico, isto é, geneticamente idênticas às encontradas no paciente transplantado; ou alogênico onde as células transplantadas não têm a mesma seqüência genética do receptor

sendo, portanto oriundas de um doador nem sempre aparentado. Existe também o transplante autólogo onde são utilizadas as células do próprio paciente. A grande complicação nos transplantes alogênicos é o desenvolvimento da reação enxerto *versus* hospedeiro, desencadeada pelos linfócitos que geram resposta imune contra os tecidos do receptor (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

A doença do enxerto *versus* hospedeiro se caracteriza pelo reconhecimento de antígenos do hospedeiro pelas células imunologicamente competentes (normalmente linfócitos T) presentes no enxerto. Esta reação pode ocorrer tanto logo após o transplante se caracterizando como doença do enxerto *versus* hospedeiro aguda, como com o passar do tempo definindo-se como doença do enxerto *versus* hospedeiro crônica (MESTRE *et al.*, 2010).

Atualmente, devido à grande capacidade de reconstituição do sistema hematopoiético, as células-tronco adultas têm sido utilizadas em transplantes e apresentando bons resultados no tratamento de algumas doenças, sejam estas malignas ou não. O sucesso da terapia está diretamente relacionado ao tipo de doença, ao estado clínico do paciente no momento da intervenção médica e ao número de células infundidas (ABDELHAY *et al.*, 2009). Enfermidades como leucemias mielóide crônica e linfocítica, síndrome mielodisplásica, mielomas, linfomas de Hodgkin's e não-Hodgkin's, alguns tumores, hemoglobinopatias, erros inatos do metabolismo e doenças auto-imunes podem ser tratadas com o transplante de células-tronco (WATT; CONTRERAS, 2005). Ainda existe um potencial uso das células-tronco na geração de células e tecidos que poderiam vir a ser utilizados em terapias celulares devido a sua grande capacidade em se diferenciar em tipos celulares específicos, sendo uma fonte renovável de tecidos e células para o tratamento de doenças como Parkinson, Alzheimer, lesões da medula espinhal, AVCs (acidentes vasculares cerebrais), queimaduras, cardiopatias, diabetes, osteoartrite e artrite reumatóide (SEGURA *et al.*, 2007).

Para Seber (2009) o transplante de células-tronco hematopoiética deverá ser sempre indicado quando a sobrevida global e a qualidade de vida forem significativamente melhores quando comparado aos tratamentos convencionais que normalmente utilizam agentes quimioterápicos (SEBER, 2009).

Porém apenas um terço dos pacientes que precisam das células-tronco hematopoiéticas para realização de transplantes encontrará em um parente células compatíveis. O restante poderá encontrar um doador compatível não aparentado em

aproximadamente 10 milhões de doadores cadastrados em bancos de todo o mundo (BRUNSTEIN *et al.*, 2007). Em estudo realizado em 2009, Magri e Silva confirmam que o sangue de cordão umbilical e tecido placentário é uma excelente fonte de células-tronco hematopoiéticas para pacientes que não possuem doadores compatíveis na família (MAGRI; SILVA, 2009). Doan e Chao (2010) complementam ainda que a terapia com doses maciças de células-troncos hematopoiéticas é uma cura potencial para estes pacientes, e a limitação no encontro de um doador é um dos motivos pelo qual a cada dia mais se estuda o uso das células-tronco de cordão umbilical e placenta (DOAN; CHAO, 2010).

Os avanços na obtenção das células-tronco hematopoiéticas, o aumento do conhecimento relativo ao complexo de histocompatibilidade, o aprimoramento da condição do paciente seja por quimioterapia ou radioterapia e as melhorias na terapia de suporte são fatores que estão garantindo a melhora contínua nos resultados dos transplantes (MESTRE *et al.*, 2010).

### **1.2.3 Transplantes de células-tronco de cordão umbilical e placentário**

O cordão umbilical humano nada mais é do que uma conexão entre a mãe e o feto (FAN *et al.*, 2011). É composto por duas artérias (responsáveis por levar o sangue rico em dióxido de carbono e produtos de excreção para a placenta) e uma veia (que transporta nutrientes e oxigênio da placenta para o feto). Envolvendo os vasos e o restante do cordão encontra-se a *geléia de Wharton* que é responsável pela proteção de todo o conteúdo umbilical (BURROUGHS, 1995).

O cordão se desenvolve juntamente com o feto e mede cerca de 55cm (mas pode variar de 30 a 100cm). É úmido, branco leitoso e normalmente torcido ou espiralado. Estende-se da área umbilical do feto para o centro da superfície fetal placentária (ZIEGEL; CRANLEY, 1985).

Considera-se como sangue e cordão umbilical e placenta todo o componente sanguíneo que fica retido na placenta e vasos durante o nascimento da criança (SILVA; LEOI, 2010). Segundo a RDC n. 56 de 16 de dezembro de 2010, essa porção de sangue é rica em células progenitoras hematopoiéticas (BRASIL, 2010).

Uma propriedade de extrema importância para o uso destas células progenitoras hematopoiéticas do sangue de cordão é a sua habilidade reduzida em

induzir reação imunológica contra o receptor (ABDELHAY *et al.*, 2009). As células autólogas não induzem reação enxerto *versus* hospedeiro, mas são menos eficientes que as alogênicas no tratamento das neoplasias. A intensidade desta reação esta diretamente relacionada ao grau de incompatibilidade do HLA do doador e do receptor (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

Para Alkindi e Dennison (2011) a explicação para a pequena incidência de doença enxerto *versus* hospedeiro nos transplantes de células de cordão umbilical quando comparado aos transplantes de medula óssea e sangue periférico, está na pouca ou quase nenhuma maturidade do sistema imune no momento do nascimento e no baixo potencial alorreativo dos linfócitos no momento da coleta. Para eles este fato explica o porquê de não ser necessário uma perfeita combinação entre os antígenos leucocitários humanos durante a escolha dos doadores (ALKINDI; DENNISON, 2011).

Apesar das inúmeras vantagens, o uso das células-tronco hematopoiéticas obtidas do sangue do cordão umbilical é limitado pelo número de células que podem ser coletadas e infundidas no receptor, conferindo desta forma o maior uso em pacientes pediátricos (ABDELHAY *et al.*, 2009).

O volume do aspirado obtido em cada coleta varia entre 50 e 200mL, desta forma, em geral somente é possível o transplante em paciente que pesem entre 30 e 40Kg explicando assim o motivo de se realizarem com maior frequência transplantes em crianças (MESTRE *et al.*, 2010).

Para facilitar e aumentar o número de transplantes com células progenitoras hematopoiéticas de cordão umbilical e placenta tem sido feito o uso de múltiplos cordões umbilicais. Este procedimento foi realizado pela primeira vez em 1972 e foram utilizados 8 cordões umbilicais em um paciente com uma severa leucemia linfocítica (WATT; CONTRERAS, 2005). Os transplantes deste *pool* ou de unidades sequenciais de cordão umbilical são técnicas que ajudam a aumentar o número de células progenitoras e melhoram a reconstituição do sistema imune (PEDRASSA, HAMERSCHLAK, 2008). Ao fazer uso de múltiplos cordões para o tratamento de um único paciente, torna-se ainda mais necessário o aumento no número de unidades armazenadas e a ampliação na quantidade de unidade de bancos de sangue de cordões umbilicais e placenta (SILVA; LEOI, 2010).

Ainda outra desvantagem apontada por Vigorito e Souza (2009), no transplante de célula-tronco hematopoiética provindo de sangue de cordão umbilical

é a recuperação lenta da contagem de neutrófilos e plaquetas. Eles afirmam ainda que a enxertia possa ser atrasada em virtude do potencial de adesão das células CD34<sup>+</sup> ser menor no sangue de cordão umbilical do que nas células da medula óssea (VIGORITO; SOUZA, 2009).

O CD34 (*Cluster of Differentiation 34*) é uma glicoproteína da superfície celular que funciona como fator de adesão celular. As células progenitoras hematopoiéticas expressam esta proteína em sua superfície, o que faz desta proteína um marcador deste tipo celular. Este marcador (CD34<sup>+</sup>) foi o mais facilmente definido e por estar expresso em células precursoras hematopoiéticas primitivas e mais maduras é comumente utilizado laboratorialmente. O CD34<sup>+</sup> também está presente em células do estroma e no tecido endotelial (WATT; CONTRERAS, 2005).

Assim laboratorialmente, as células marcadas com o anticorpo monoclonal anti-CD34<sup>+</sup> representam as células-tronco hematopoiéticas (BACAL *et al.*, 2001). O antígeno CD34<sup>+</sup> foi caracterizado como uma proteína presente tanto nos progenitores da medula óssea como no sangue periférico. Durante pesquisas percebeu-se que células CD34<sup>+</sup> isoladas eram capazes de fazer a reconstituição do sistema hematopoiético o que sugeria que pelo menos algumas das células eram multipotentes (MACKIE; LOSORDO, 2011).

De acordo com Mackie e Losordo (2011) acredita-se que as células CD34<sup>+</sup> são responsáveis por promover a proliferação das células progenitoras hematopoiéticas, promover a adesão dos linfócitos no endotélio vascular, possuir envolvimento na hematopoese e tráfego das células hematopoiéticas (MACKIE; LOSORDO, 2011).

Para Pranke e colaboradores (2006) o número de células CD34<sup>+</sup> é um fator crucial para a “pega” do enxerto, garantindo o sucesso ou não do transplante (PRANKE *et al.*, 2006).



## 2.0 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO E OBJETIVO

Atualmente muito se discute sobre células-tronco e seus potenciais usos em seres humanos. O uso de cordão umbilical e tecido placentário como fonte de células-tronco tem despertado grande interesse aos pesquisadores, profissionais da saúde e população em geral. Sabe-se que os processos envolvidos desde a coleta até o armazenamento nos bancos de cordão umbilical e placenta são de extrema importância para a obtenção do sucesso na remissão da doença do paciente transplantado.

Por meio de revisão bibliográfica serão estudadas neste trabalho as etapas envolvidas na coleta e armazenamento de células-tronco oriundas de sangue de cordão umbilical e tecido placentário. Para isso foram utilizados dados extraídos de livros, fontes eletrônicas e resoluções brasileiras. Além destes, utilizou-se trabalhos e artigos científicos das principais revistas brasileiras e estrangeiras da área médica.

De maneira clara e objetiva pretende-se com este trabalho aumentar o conhecimento sobre as células-tronco de maneira geral, destacar a importância do uso de células-tronco de cordão umbilical e tecido placentário, e principalmente conhecer as etapas envolvidas desde a coleta até a criopreservação das células progenitoras hematopoiéticas do cordão umbilical e placenta. Outro ponto importante que será destacado neste estudo se refere à importância da criação e divulgação dos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário no Brasil.

### 3.0 COLETA, PROCESSAMENTO E PRESERVAÇÃO DE CÉLULAS DE CORDÃO UMBILICAL

O sangue de cordão umbilical e tecido placentário é rico em células-tronco hematopoiéticas e pode ser coletado em parto cesáreo ou vaginal (DUARTE *et al.*, 2009). A coleta pode ser realizada intraútero (antes da liberação da placenta) ou fora do útero (após o descolamento da placenta) (SILVA; LEOI, 2010; PEDRASSA, HAMERSCHLAK, 2008).

Segundo Silva e Leoi (2010) após o nascimento o cordão umbilical deverá ser clampeado e puncionado com uma agulha que fará a conexão com a bolsa de coleta. A placenta deverá estar em local estéril e mais elevado quando comparada à bolsa, fazendo com que o sangue flua por gravidade. A seguir a bolsa é enviada ao banco de sangue. Após a mãe doadora será entrevistada e terá amostras de sangue coletadas para realização de exames sorológicos (SILVA; LEOI, 2010).

Segundo a RDC153/2004 a coleta deverá ser feita, em sistema fechado, por médico ou enfermeiro treinado e capacitado. Os reagentes e materiais devem ser estéreis, apirogênicos e descartáveis. Somente deverá ser aceita se o volume do aspirado alcançar 70mL ou o número total de células nucleadas for superior  $5 \times 10^8$  células (BRASIL, 2004).

Após a coleta o sangue deverá ser rotulado e armazenado a temperatura de  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  até ser transportado em caixas adequadas para materiais biológicos (com controle da temperatura) para o laboratório de processamento (BARINI *et al.*, 2011). O tempo entre a coleta, o início de processamento e criopreservação não deverá exceder 48 horas (BRASIL, 2004).

O sangue do cordão umbilical deve ser coletado logo após o nascimento da criança, processado e criopreservado até o momento do seu uso. É de fundamental importância que a amostra contenha um número baixo de células T maternas e esteja livre de agentes infecciosos transmissíveis (MESTRE, 2010). Segundo Cruz e colaboradores (2009) ao serem armazenadas a  $-196^\circ\text{C}$  estas células mantêm suas características originais permitindo que sejam utilizadas futuramente (CRUZ *et al.*, 2009). Assim, as amostras são criopreservadas em nitrogênio líquido para atingir a temperatura ideal de  $-196^\circ\text{C}$  (SILVA; LEOI, 2010). No momento do uso as unidades são descongeladas utilizando uma técnica de lavagem com dextran/albumina (PEDRASSA, HAMERSCHLAK, 2008).

Os principais motivos que inviabilizam a coleta do material do cordão umbilical são a presença de doenças sexualmente transmissíveis, febre materna durante o parto, medicamentos administrados na mãe, doença materna, complicações durante o parto, presença de infecções ou problemas com a placenta e cordão umbilical (MESTRE *et al.*, 2010).

Cruz e colaboradores (2009) afirmam que para o armazenamento em bancos públicos também é de fundamental importância que a mãe tenha entre 18 e 36 anos, idade gestacional superior a 35 semanas, que o peso do bebê seja superior a 2Kg e que não possua história familiar de doenças neoplásicas e/ou hematológicas (CRUZ *et al.*, 2009).

Para o armazenamento em bancos públicos antes da coleta são realizados na mãe doadora os seguintes exames: triagem sorológica para hepatites A, B e C, HIV I e II, HTLV I e II, citomegalovírus, toxoplasmose, doença de chagas e sífilis, além de eletroforese de hemoglobina. Antes do armazenamento as amostras de sangue são submetidas as tipagens de HLA, ABO e Rh, além de hemoculturas para bactérias e fungos. São analisados também dados da história materna como etnia, religião, doenças genéticas na família, viagens para áreas de risco, comportamento de risco seja sexual ou uso de drogas (SILVA; LEOI, 2010).

Para garantir um bom número de células nos aspirado os bancos de cordão devem fazer o possível para impedir a perda de células da unidade de sangue de cordão umbilical. É sabido que em torno de 20% de células são perdidas no descongelamento e manipulação (RODRIGUES *et al.*, 2010). Perdas mais elevadas devem ser evitadas.

Segundo estudo realizado por Barini e colaboradores (2011) comprovou-se que o tempo entre a coleta e o processamento da amostra é de extrema importância para a qualidade e sucesso do tratamento. Neste estudo ficou evidente a diminuição do número de células nucleadas, células viáveis e células CD34+ com o passar do tempo. Concluindo que o intervalo de tempo entre a coleta e o processamento da amostra deve ser o mínimo possível (BARINI *et al.*, 2011).

Para Rodrigues e colaboradores (2010) é de grande importância avaliar a procedência da unidade de sangue de cordão umbilical e placentário. Deve-se verificar se o banco possui acreditação nas agências regulatórias e se respeita às recomendações de processamento, estocagem e controle sorológico. No Brasil os bancos pertencentes à rede BrasilCord seguem os protocolos da "Foudation for the

Accreditation of Cellular Therapy” (FACT) possuindo bioarquivos, processamento com sistema fechado e controle de qualidade rigoroso (RODRIGUES *et al.*, 2010).

Uma estratégia utilizada no controle de qualidade das amostras armazenadas é a realização de novos exames na mãe e no recém-nascido após dois a seis meses da coleta. Somente após a confirmação destes exames é que a unidade estará liberada para o uso (SILVA; LEOI, 2010).

Segundo Rodrigues e colaboradores (2010), o tempo de estocagem não interfere com os resultados dos transplantes visto que, unidades congeladas há mais de 10 anos ainda continuam sendo usadas com sucesso (RODRIGUES *et al.*, 2010).

#### 4.0 BANCOS DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO

Segundo Pedrassa e Hamerschlak (2008), os bancos de sangue de cordão umbilical e tecido placentário envolvem: recrutamento, consentimento, testes laboratoriais maternos, coleta, processamento, criopreservação, testes laboratoriais no sangue coletado e transportes aos centros responsáveis pela realização dos transplantes (PEDRASSA; HAMERSCHLAK, 2008).

O armazenamento das células-troco de cordão umbilical é feito em bancos regularizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regularizado pela RDC n. 153/04 que trata sobre a seleção de doadoras, coleta, transporte, processamento da amostra, armazenamento, liberação, descarte, registros e garantia de qualidade de todos os processos envolvidos. Também fica determinado nesta resolução que os estabelecimentos envolvidos em todas as etapas citadas acima, tenham licença de funcionamento ou alvará sanitário emitidos pela vigilância sanitária vigente (MENDES-TAKAO *et al.*, 2010).

Para ser considerado um banco de sangue de cordão umbilical e placentário é necessário que no mínimo 12 mil amostras sejam armazenadas, sendo que devem incluir as diferentes características raciais e origens étnicas. Além disso, devem ser realizadas coletas nas mais diferentes regiões do país (BARINI *et al.*, 2011). Este fato é de suma importância para garantir que um banco de armazenamento de sangue umbilical e tecido placentário possua uma diversidade antigênica como resultado da mistura das civilizações formando um “mix” étnico e uma ampla variabilidade do antígeno leucocitário humano (HLA) (ARROJO *et al.*, 2012).

Existem dois tipos de bancos para armazenamento de sangue de cordão umbilical e tecido placentário, o de caráter público e o de caráter privado (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009). Segundo Duarte e colaboradores (2009), o armazenamento em bancos privados destina-se exclusivamente ao uso autólogo, isto é, do próprio doador. Assim, estes bancos destinam-se aos pais que pretendem armazenar as células-tronco do recém-nascido pra uso exclusivo do mesmo no futuro. Já o banco público fornece as células de sangue de cordão umbilical e tecido placentário para transplante alogênico. Em relação aos bancos privados, acredita-se que a taxa de uso varia entre 1 em 25.000 a 1 em 200.000 nos primeiros 20 anos após a coleta

(ALKINDI; DENNISON, 2011). Estes bancos são administrados por empresas que cobram taxas para armazenar e manter congeladas as unidades (SILVA; LEOI, 2010).

Ainda segundo Duarte e colaboradores (2009) os bancos privados destinam-se ao uso unicamente do doador, por isso acaba tendo seu uso limitado a receptores (que foram os próprios doadores) com baixo peso. Já os bancos públicos utilizam material de doadores voluntários podendo-se utilizar mais de uma unidade de sangue de cordão umbilical e placentário desde que sejam compatíveis (DUARTE *et al.*, 2009).

De acordo com Thornley e colaboradores (2009) as famílias podem optar por armazenar as células do cordão umbilical de duas maneiras: antecipadamente ou profilaticamente. Quando feito de forma profilática considera-se como uma garantia para o futuro. Mas quando um membro da família ou o próprio doador tem grande chance de precisar ou já tem certeza que irá usar a unidade armazenada, é dito como armazenamento antecipado (THORNLEY *et al.*, 2009).

O armazenamento em bancos privados de acordo com McKenna e Sheth (2011) envolve toda uma questão lucrativa. Os estabelecimentos encorajam os pais e parentes a realizarem o armazenamento das células de cordão para uso autólogo ou em alguns casos para membros da família caso precisem. Esclarecem ainda que pagando um determinado valor a unidade será processada e armazenada como uma espécie de “seguro biológico”. No entanto, os familiares devem ficar atentos, pois o sucesso após o uso das unidades de sangue de cordão utilizadas por um irmão ou irmã ainda não está totalmente garantido, visto que transplantes deste tipo estão em fase de experimentação (MCKENNA; SHETH, 2011).

Por outro lado, após a doação para um banco público as células do sangue de cordão se tornam propriedade do banco. No entanto, normalmente se algum membro da família precisar utilizá-lo ele voltará ao poder da família, isto claro se a unidade ainda encontrar-se armazenada (MCKENNA; SHETH, 2011).

O primeiro banco de sangue de cordão umbilical e tecido placentário público foi o “New York Blood Center” fundado em 1993 pelo doutor Pablo Rubstein nos Estados Unidos (MAGRI; SILVA, 2009). Em estudo realizado em 2008, Pereira (2008) afirma que naquela data existiam mais de 60mil amostras armazenadas em bancos públicos nos Estados Unidos. Ressalta ainda que a intenção era chegar a 150mil amostras para atender toda a população (PEREIRA, 2008).

Manter unidades de sangue de cordão umbilical é um procedimento raro e de alto custo, protocolos de obtenção deveriam ser otimizados e envolver uma seleção cuidadosa de doadores com o intuito de reduzir o número de amostras descartadas. Alguns fatores que devem ser avaliados antes da coleta: pré-seleção cuidadosa das mães durante o período gestacional, idade gestacional, peso fetal, escolha do tipo de parto, sexo do recém-nascido e multiparidade. A avaliação de todos esses fatores pode reduzir o número de unidades descartadas e também influenciar no volume final e no número total de células que será disponibilizado para a doação (ARROJO *et al.*, 2012).

Ainda segundo Arrojo e colaboradores (2012), a introdução de sistemas de qualidade, as legislações específicas e o uso de práticas baseadas em evidências científicas têm contribuído para o contínuo aumento na qualidade e no processo de armazenagem das unidades de sangue de cordão umbilical. Este autor cita ainda que diferente de pouco tempo atrás, atualmente os transplantes de células-tronco hematopoiéticas de cordão umbilical e placenta podem ser utilizados em todos os tipos de pacientes tanto quanto aqueles que usam células da medula óssea ou sangue periférico (ARROJO *et al.*, 2012).

Em estudo recente Alkindi e Dennison (2011) afirmam que as estatísticas sugerem que mais de 40.000 de unidades de sangue de cordão umbilical estejam armazenadas em 40 países por todo o mundo em bancos públicos. Enquanto isso nos bancos privados estima-se que existam aproximadamente 900.000 unidades armazenadas (ALKINDI; DENNISON, 2011).

Para McKenna e Sheth (2011) existem no mínimo 142 bancos públicos e 25 bancos privados em todo o mundo. Estes autores acreditam ainda que certamente outras unidades serão inauguradas em pouco tempo (MCKENNA; SHETH, 2011).

Em meados de 2004 o Ministério da Saúde criou a rede nacional de bancos de sangue de cordão conhecida como BrasilCord (PEREIRA, 2008). De acordo com Duarte e colaboradores (2009) o sistema de armazenamento público comandado pelo BrasilCord, durante estudo realizado em 2009 encontrava-se em fase de estruturação com intenção de se associar a rede mundial de bancos públicos a NETCORD. Segundo ele, nesta mesma data haviam 6.000 unidades armazenadas nos bancos públicos brasileiros. Uma quantia muito pequena

comparada à necessidade do nosso país. Essa união com o banco mundial certamente seria de grande valor aos pacientes brasileiros (DUARTE *et al.*, 2009).

Em pesquisa realizada no banco de dados eletrônicos disponível a toda população no *site* do INCA, verificou-se a existência de 12 bancos de sangue de cordão umbilical pertencentes à rede BrasilCord em todo o país. Os bancos estão localizados no Rio de Janeiro, São Paulo (em quatro diferentes centros), Distrito Federal, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Ceará, Pará, Pernambuco e Curitiba. Existem atualmente 10.000 unidades preservadas no país (INCA, 2012).

Segundo Pereira (2008) pensando em saúde pública seria muito interessante que as coletas realizadas pela rede BrasilCord fossem feitas em diferentes maternidades que atinjam variações étnicas e genéticas da população brasileira (PEREIRA, 2008).

Atualmente existe uma tendência de se criarem bancos mistos, onde em um primeiro momento pré-determinado o armazenamento seria privado e após passaria a ser de uso público (DUARTE *et al.*, 2009). Cogita-se ainda o uso de um terceiro tipo de banco ainda pouco conhecido. Trata-se de bancos privados direcionados para a utilização de familiares com autorização (SILVA; LEOI, 2010). De acordo com Gluckman e colaboradores (2011), apenas alguns países possuem este sistema de armazenamento. Este banco tem uma mistura das políticas dos bancos públicos e privados. Neles as células dos cordões são aceitas e ficarão armazenadas somente para o uso da própria família. Principalmente em casos onde na família existam irmãos e/ou irmãs que sofram de desordens que possam ser tratadas com as células-tronco de cordão umbilical (WALLER-WISE, 2011).

Enquanto para bancos públicos as gestantes devem cumprir determinados requisitos para fazer a doação, em bancos direcionados para o uso familiar a seleção deve ser rigorosa para que sejam selecionadas somente as mães que realmente tenham alta probabilidade de conceberem bebês com doenças cujo tratamento possa ser feito com células provindas de cordão umbilical (GLUCKMAN *et al.*, 2011).

Acredita-se que no futuro durante no pré-natal os pais saberão quando será indicado armazenar as células do cordão umbilical para beneficiar a criança no futuro com terapia gênica utilizando seus próprios cordões. Nestes casos, células-tronco com genes modificados poderão ser infiltradas ainda no começo da vida evitando-se as complicações das doenças (GLUCKMAN *et al.*, 2011).



## 5.0 LEGISLAÇÃO E BIOÉTICA

Segundo Cruz e colaboradores (2009), no Brasil a regulamentação dos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária norteada pela RDC 153 de 14 de junho de 2004 (CRUZ *et al.*, 2009).

São responsabilidades dos bancos de armazenamento de sangue de cordão umbilical e tecido placentário com política pública: efetuar a seleção das gestantes candidatas à doação, obter consentimento livre e esclarecido, realizar a coleta, avaliar e processar as células para utilização em transplantes alogênicos não-aparentados, realizar exames laboratoriais importantes para a caracterização e identificação de possíveis contra-indicações ao emprego do aspirado, garantir a qualidade e a conservação, disponibilizar as unidades para distribuição e fornecer à equipe médica todas as informações necessárias para a realização do procedimento (BRASIL, 2004).

É de extrema importância que o banco mantenha arquivo próprio com dados sobre: a mãe e o recém-nascido, os documentos de autorização da doação, as unidades doadas, processadas, armazenadas, descartadas com o motivo do descarte, fornecidas para transplante, os respectivos receptores e sua evolução após o transplante. Também deverá ser enviado um relatório mensal com os dados de produção do banco de sangue de cordão umbilical e placentário ao Sistema Nacional de Sangue e ao Órgão Federal de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004).

O termo de consentimento livre e esclarecido (conforme modelo sugerido pela RDC 56/2010 e que consta no anexo I) é um documento que deve ser claro e dispor no mínimo dos seguintes tópicos: informações sobre os riscos ao doador e benefícios ao receptor, os testes que avaliarão o doador e a garantia que seus resultados serão informados, autorização para a coleta de amostras para testes de importância, autorização para o acesso ao prontuário do doador, autorização para expor aos centros de transplantes os dados relativos às amostras, autorização para a transferência física das amostras para os centros realizadores dos transplantes, autorização para guardar amostras de células, plasma, soro, DNA para a realização de testes futuros e autorização para descartar as unidades que não se encaixam aos conceitos exigidos nas legislações vigentes (BRASIL, 2010).

De acordo com a RDC56/2010 as exigências de qualidade e segurança devem ser seguidas durante a rotina e incluem testes sorológicos de alta sensibilidade para detecção de infecções transmissíveis pelo sangue, testes microbiológicos, contagem do número total de células nucleadas e eritroblastos se necessário for, testes de viabilidade e fenotipagem celular quantificando as células com o marcador CD34<sup>+</sup>, teste funcional quando couber e caracterização molecular (identificação de histocompatibilidade pela determinação dos antígenos leucocitários humanos) (BRASIL, 2010).

## 6.0 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Muito se fala em células progenitoras hematopoiéticas, porém pouco se discute sobre as células-tronco providas de sangue de cordão umbilical e tecido placentário. A obtenção dessas células é feita por meio de procedimento rápido e indolor para a mãe e o bebê, ao contrário das outras fontes de células-tronco.

O armazenamento de células-tronco de cordão umbilical e placenta é certamente uma esperança para pacientes que dependem de transplante de células-tronco hematopoiéticas para sobreviver, considerando-se que estas células são capazes de tratar doenças e lesões substituindo células doentes por saudáveis.

Percebeu-se ao longo deste estudo, que as etapas envolvidas desde a coleta até a criopreservação são de grande valia para a qualidade da amostra que será preservada. Em primeiro lugar a coleta deve ser realizada por profissional capacitado e treinado, e somente deverá ser feita após orientação da mãe doadora e preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido. Após a coleta realizada durante o parto, as amostras devem passar por diversos testes sorológicos, imunológicos, microbiológicos e hematológicos que garantam sua viabilidade para armazenamento e uso futuro.

Outros procedimentos como transporte e manipulação também devem ser feitos com cuidado. Ao serem enviadas aos laboratórios de processamento as amostras devem ser acondicionadas em recipientes próprios com controle de temperatura. E após o processamento nos laboratórios devidamente habilitados, as amostras devem ser congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas nos bancos de cordão e células placentárias. E assim devem ser preservadas até o momento em que forem utilizadas.

Verificou-se também que o tempo entre a coleta e o processamento não deve exceder 48 horas. E, ainda, estudos mostram que as unidades preservadas continuam viáveis por décadas.

As etapas envolvidas no armazenamento de forma geral devem ser realizadas de forma minuciosa seguindo-se as rotinas adequadas definidas em protocolos, visto que o armazenamento das células progenitoras hematopoiéticas é

considerado um procedimento relativamente caro. Coletas de mães que não atendam as exigências, congelamento de amostras reprovadas no controle de qualidade, processamento, armazenamento e até mesmo descongelamento das unidades de forma errada certamente causariam prejuízos consideráveis seja para bancos públicos ou privados.

Apesar de ser conhecida relativamente há bastante tempo entre pesquisadores e estudiosos, esta fonte de células-tronco ainda é considerada novidade para grande parte da população brasileira. O aumento no número de bancos de armazenamento assim como amostras congeladas certamente seria de grande valia para a população.

Mesmo a quantidade da amostra sendo um fator pouco promissor para seu uso, atualmente já se utiliza o *pool* de cordões com o intuito de driblar esta dificuldade. Este é mais um dos motivos pelos quais se deve incentivar a doação dos cordões, visto que um mesmo paciente pode ser necessário mais de uma unidade armazenada.

Para Ribeiro (2010) pesquisas envolvendo células-tronco são bastante fascinantes e têm crescido de forma surpreendente nos últimos anos. Com estes estudos e pesquisas espera-se o desenvolvimento de terapias celulares para o tratamento de várias doenças inclusas na medicina regenerativa, que garantiriam uma melhor qualidade de vida aos pacientes que atualmente sofrem de doenças até então incuráveis (RIBEIRO, 2010).

## REFERÊNCIAS

- ABDELHAY, E. S. F. W. *et al.* Células-tronco de origem hematopoiética: expansão e perspectivas de uso terapêutico. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2009, v. 31, p. 2-8.
- ALKINDI, S.; DENNISON, D. Umbilical cord blood banking and transplantation: a shot review. **SQU medical journal**. 2011, v. 11, n. 4, p. 455-461.
- ARROJO, I. P.; *et al.* Trends in cord blood banking. **Blood transfus**. 2012, v. 10, p. 95-100.
- BACAL, N. S. *et al.* Quantificação de células CD34+em sangue periférico, produto de aférese e cordão umbilical: estudo comparativo de três diferentes metodologias. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2001, v. 23, n. 2, p. 60-78.
- BARINI, R.; *et al.* O intervalo de tempo entre coleta e processamento do sangue de cordão umbilical influencia na qualidade da amostra? **Revista einstein**. 2011, v. 9, n.2, p. 207-211.
- BRASIL. **Resolução n. 153, de 14 de junho de 2004**. Determina o Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. Brasília: 2004.
- BRASIL. **Resolução n. 56, de 16 de dezembro de 2010**. Dispõe sobre o Regulamento técnico para o funcionamento dos laboratórios de processamento de células progenitoras hematopoiéticas (CPH) provenientes de medula óssea e sangue periférico e bancos de sangue de cordão umbilical e placentário, para finalidade de transplante convencional e dá outras providências. Brasília: 2010.
- BRUNSTEIN, C. G. *et al.* Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. **British journal of haematology**. 2007, v. 137, p. 20-35.
- BURROUGHS, A. **Uma introdução a enfermagem materna**. 6.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1995. 456 p.
- CABELEIRA, A. *et al.* O sangue de cordão umbilical em medicina regenerativa: uma revisão dos avanços científicos mais recentes. **Acta obstetrica e ginecologica portuguesa**. 2010, v. 4, n. 2, p. 81-87.
- CASTELO-BRANCO, G. *et al.* **Criopreservação de células estaminais do sangue de cordão umbilical: perspectivas terapêuticas**. [S.l.: s.n.] 2003.
- CASTRO JÚNIOR, C. G. ET al. Transplante de medula óssea e transplante de sangue de cordão umbilical em pediatria. **Jornal de pediatria**. 2001, v. 77, n. 5, p. 345-360.

CRUZ, L. E. *et al.* Sangue de cordão umbilical para uso autólogo ou grupo de pacientes especiais. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2009, n. 31, p. 36-44.

DOAN, P. L.; CHAO, N. J. Advances in cord blood transplants in adults. **F1000 medicine reports**. 2010, v. 2, p. 12

DUARTE, S. *et al.* Armazenamento de sangue de cordão umbilical e placenta: público, privado ou ambos? **Revista da associação médica brasileira**. 2009, v. 55, n. 1, p. 1-11.

FAN, C. *et al.* Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord. **Stem cell reviews and reports**. 2011, v. 7, p. 195-207.

GLUCKMAN, E. *et al.* Family-directed umbilical cord blood banking. **Haematologica**. 2011, v. 96, n. 11, p. 1700-1707.

GOMES, T. L.; PRANKE, P. Comparação entre células-tronco de sangue de cordão umbilical de neonatos prematuros e nascidos a termo: uma revisão. **Revista brasileira de análises clínicas**. 2008, v. 40, n. 1, p. 25-30.

INCA - **Instituto Nacional do Câncer**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/impressao.asp?op=cv&id=2627>>. Acesso em: 12 mar. 2012.

SILVA JUNIOR, F. C. *et al.* Células-tronco hematopoiéticas: utilidades e perspectivas. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2009, v. 31, p. 53-58.

KAWASAKI-OYAMA, R. S. *et al.* Cultivo de células mesenquimais do sangue de cordão umbilical com e sem uso do gradiente de densidade Ficoll-Paque. **Revista brasileira de cirurgia cardiovascular**. 2008. v. 23, n. 1, p. 29-34.

MACKIE, A. R.; LOSORDO, D. W. CD34-positive stem cell in the treatment of heart and vascular disease in human beings. **Texas heart institute journal**. 2011, v. 38, n. 5, p. 474-485.

MAGRI, A. C. V.; SILVA, J. O. Banco de sangue de cordão: uma realidade polêmica e necessária. **Revista multidisciplinar de saúde**. 2009, n. 1, p. 98-105.

MCKENNA, D.; SHETH, J. Umbilical cord blood: current status & promise for the future. **Indian journal of medical research**. 2011, v. 134, n. 3, p. 261-269.

MESTRE, M. L. M. *et al.* Fontes de células no transplante de células-tronco hematopoiéticas. **Revista brasileira de análises clínicas**. 2010, v. 42, n. 1, p. 3-7.

PEDRASSA, P. ; HAMERSCHLAK, N. Transplante de células-tronco de sangue de cordão umbilical. **Prática hospitalar**. 2008, n. 55, p. 98-102.

PEREIRA, L. V. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. **Ciência e saúde coletiva**. 2008, v. 13, n. 1, p. 7-14.

PRANKE, P. *et al.* Comparative quantification of umbilical cord blood CD34<sup>+</sup> and CD34<sup>+</sup> bright cells using the ProCount™-BD and ISHAGE protocols. **Brazilian journal of medical and biological research**. 2006, v. 39, n. 7, p. 901-906.

RIBEIRO, C. M. F. Congelamento de sangue de cordão umbilical. **Femina**. 2010, v. 38, n. 10, p. 503-504.

RODRIGUES, C. A. *et al.* Transplante de sangue de cordão umbilical - SCU. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2010, v. 32, p. 8-12.

SEBER, A. O transplante de células-tronco hematopoiéticas na infância: situação atual e perspectivas. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2009, v. 31, p. 59-67.

SEGURA, D. C. A. *et al.* Células-tronco: as células capazes de gerar outros tipos de células. *Arquivos de ciências da saúde da Unipar*. v. 11, n. 2, p. 145-152, Maio/ago. 2007.

SENEGAGLIA, A. C. *et al.* Expansão de células-tronco da medula óssea e do sangue de cordão umbilical humano. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2009, v. 31, p. 9-14.

SILVA, M. O.; LEOI, L. C. T. Banco de sangue de cordão umbilical e placentário no Brasil. **Ensaio e ciência: ciências biológicas, agrárias e da saúde**. 2010, v. 14, n. 2, p. 125-141.

MENDES-TAKAO, M. R. *et al.* Bancos de sangue de cordão umbilical e placentário para uso familiar, de caráter privado, no Brasil – subsídios técnicos, legais e éticos para uma análise de implementação. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2010, v. 32, n. 4, p. 317-328.

THORNLEY, I. *et al.* Private Cord blood banking: experiences and views of pediatric hematopoietic cell transplantation physicians. **Pediatrics**. 2009, v. 123, n. 3, p. 1011-1017.

VIGORITO, A. C.; SOUZA, C. A. Transplante de células-tronco hematopoéticas e a regeneração da hematopoese. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. 2009, v. 31, n. 4, p. 280-284.

WALLER-WISE, R. Umbilical cord blood: information for childbirth educators. **The journal of perinatal education**. 2011, v. 20, n. 1, p. 54-60.

WATT, S. M.; CONTRERAS, M. Stem cell medicine: umbilical cord blood and its stem cell potential. **Seminars in fetal & neonatal medicine**. 2005, v. 10, p. 209-220.

ZIEGEL, E.; CRANLEY, M. S. **Enfermagem obstétrica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. 696 p.

**ANEXOS**



## ANEXO A - MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA DOAÇÃO DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO

Nome do(s) responsável(eis), data de nascimento e RG:

---

---

Foi esclarecido que:

- O sangue de cordão umbilical e placentário - SCUP - deverá ser coletado somente após a secção do cordão umbilical, não trazendo portanto nenhum prejuízo à mãe e ao (à) filho(a);
- O SCUP nosso(a) filho(a) deverá ser utilizado para realização de transplante de células progenitoras hematopoéticas. O critério de utilização deverá ser o do banco de sangue de cordão umbilical e placentário - BSCUP;
- Todas as informações referentes à mãe, ao(a) filho(a) e ao SCUP coletado, deverão ser tratadas de forma sigilosa, garantindo o anonimato;
- Logo após o nascimento e dois a seis meses depois, deverá ser realizado um exame clínico do(a) nosso(a) filho e para tal estamos cientes que devemos informar qualquer mudança de endereço ao BSCUP;
- No momento do parto e dois a seis meses depois, deverá ser colhida amostra do sangue da mãe para a realização de testes de detecção de doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue. A critério do BSCUP outros testes poderão ser realizados nesta amostra;
- Também deverá ser colhida amostra do SCUP para realização de exames necessários para o transplante de células progenitoras hematopoéticas;

- Qualquer resultado alterado nos exames realizados será comunicado à mãe pelo médico responsável do BSCUP;
- Amostras de células, plasma, soro e DNA do sangue da mãe e do SCUP deverão ser armazenadas para testes futuros;
- O prontuário hospitalar da mãe e do(a) filho(a) poderão ser consultados a qualquer momento pelo BSCUP ou pelo serviço de transplante, para obtenção de dados clínicos e história médica necessários;
- O BSCUP fica autorizado a transferir a unidade de SCUP, assim como todos os dados a ela relacionados, para serviços de transplante e centros de registros.
- O BSCUP fica autorizado a descartar a unidade de SCUP caso não sejam atendidos aos critérios de armazenamento ou seja, excedido o seu prazo de validade;
- Fica autorizada a utilização da unidade de SCUP em projetos de pesquisa aprovados pelo comitê de ética do hospital ou maternidade vinculado(a) ao BSCUP;
- Não receberemos nenhuma remuneração, compensação material ou financeira, ou privilégio pela doação da unidade de SCUP;
- A doação é livre e voluntária sendo facultada a desistência até o momento da coleta, sem que isto cause prejuízo ao atendimento da mãe e do recém-nascido;
- Este consentimento prévio não obriga o hospital, a maternidade, ou o BSCUP a colher o SCUP do(a) nosso(minha) filho(a), se houver impedimentos técnicos para a coleta;

- Lemos, compreendemos e estamos satisfeitos com todas as informações recebidas. Pudemos formular todas as perguntas convenientes e todas as dúvidas foram esclarecidas.
- Em conseqüência, damos o nosso consentimento para coleta do SCUP do(a) nosso(a) filho(a) e aceitamos as condições acima descritas.

Assinatura do(s) responsável(eis) legal(ais):

Assinatura e carimbo do médico responsável pelo BSCUP:

Local:

Data:

## ANEXO B – RDC 56/2010 – REPRODUÇÃO PARCIAL

### Seleção do doador

Art. 37 A doação de CPH de medula óssea, sangue periférico ou sangue de cordão umbilical e placentário para uso em transplante convencional deve obedecer à legislação específica vigente e respeitar os preceitos éticos sobre o assunto, ficando garantidos o sigilo, a gratuidade, a publicidade e o consentimento livre e esclarecido.

Art. 38 O serviço deve prover ao doador todas as informações relativas ao processo de doação, riscos envolvidos, testes laboratoriais, entre outras necessárias para compreensão e assinatura do TCLE, o qual deve ser redigido em linguagem clara e compreensível para o leigo e deve conter, no mínimo, e quando couber:

- I - informações sobre os riscos ao doador e benefícios ao receptor da doação;
- II - os testes que serão realizados para a qualificação do doador e a garantia de que os resultados lhe serão informados;
- III - autorização para a coleta de amostras necessárias para os testes de importância para o transplante de CPH;
- IV - autorização para acesso aos prontuários médicos do doador para obtenção de dados clínicos e história médica de familiares com importância potencial para o procedimento de transplante;
- V - autorização para transferir os dados sobre o material para centros de transplante e registros de unidades disponíveis para transplante, garantido o anonimato;
- VI - autorização para transferir, fisicamente, a unidade de CPH para centros de transplante, sendo garantido o anonimato;
- VII - autorização para armazenar amostras de células, plasma, soro e DNA do doador para testes que se fizerem necessários no futuro;
- VIII - autorização para eventual coleta com a placenta "in utero" nos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário que assim procedem; e
- IX - autorização para descartar as unidades que não atenderem aos critérios para armazenamento ou seu uso posterior para transplantes.

Art. 45 A coleta de sangue periférico e sangue de cordão umbilical e placentário deve ser realizada por profissional de nível superior da área de saúde habilitado, capacitado e treinado.

Art. 46 A coleta deve ser realizada em estabelecimentos de saúde que atendam as exigências da legislação vigente, devendo ser mantidas as condições de assepsia necessárias, de forma a minimizar o risco de contaminação microbiana.

§1º A coleta de medula óssea deve ser realizada em centro cirúrgico.

§2º O sangue de cordão umbilical e placentário deve ser coletado em sistema fechado próprio para coleta deste tipo de material e em hospital ou maternidade regularizados junto ao órgão de vigilância sanitária competente.

Art. 63 As unidades de CPH de medula óssea, sangue periférico e sangue de cordão umbilical e placentário, só podem ser liberadas para uso terapêutico depois de satisfeitos todos os requisitos obrigatórios para a manutenção da qualidade das células e segurança do receptor.

Art. 64 Devem ser seguidos os requisitos de qualidade e segurança, dispostos neste Regulamento bem como em demais normas específicas vigentes, incluindo, no mínimo:

I - testes sorológicos de alta sensibilidade para detecção de marcadores para infecções transmissíveis pelo sangue;

II - testes microbiológicos;

III - contagem do número total de células nucleadas e de eritroblastos, quando couber;

IV - teste de viabilidade celular;

V - fenotipagem celular, quantificando células com marcador CD34 positivas, quando couber;

VI - teste funcional, quando couber; e

VII - caracterização molecular, definida como a identificação da histocompatibilidade por meio da determinação de Antígenos Leucocitários Humanos (HLA), quando couber.

Art. 87 O laboratório de processamento de CPH de medula óssea e sangue periférico e o banco de sangue de cordão umbilical e placentário devem possuir sistema de registro e arquivos que permitam a rastreabilidade das células, desde a sua obtenção até o seu destino final.

Parágrafo único. Todos os registros e arquivos devem ser mantidos durante o período de armazenamento da unidade de CPH e por período mínimo de 10 anos após o descarte ou a utilização terapêutica.

Art. 111 O sangue coletado deverá ser aceito para processamento quando o número total de células nucleadas na unidade for igual ou superior a  $5 \times 10^6$  (quinhentos milhões) de células nucleadas.

Parágrafo único. O BSCUP, de acordo com o definido por sua política de qualidade, pode decidir por aumentar o valor mínimo aceito para o processamento de unidades de sangue de cordão umbilical e placentário em suas instalações.

Art. 112 Os seguintes testes laboratoriais devem ser realizados na mãe, em uma primeira amostra de sangue colhida no dia do parto ou até 48 (quarenta e oito) horas após:

- I - testes de triagem de infecções transmissíveis pelo sangue;
- II - citomegalovírus - sorologia para a detecção de anticorpos totais e IgM;
- III - toxoplasmose - sorologia para a detecção de anticorpos IgM; e
- V - teste para detecção de hemoglobinas anormais

Parágrafo único. Sempre que possível, repetir os testes de triagem de doenças transmissíveis em uma amostra de sangue materno, coletada após o segundo mês pós-parto, idealmente no sexto mês pós-parto.

Art. 113 Os seguintes testes laboratoriais devem ser realizados na unidade de sangue de cordão umbilical e placentário, em alíquota coletada da unidade antes da criopreservação:

- I - teste para detecção de hemoglobinas anormais;
- II - tipagem de HLA-A, HLA-B e HLA-DR, conforme legislação específica vigente;
- III - tipagem ABO e RhD;
- IV - contagem do número total de células nucleadas e de eritoblastos;
- V - contagem de células CD34 positivas;

VI - teste de viabilidade celular por citometria de fluxo;

## ANEXO C – RDC 153/2004 – REPRODUÇÃO PARCIAL

### O.2.1.7.1.2 Seleção de doadora

São candidatas à doação de SCUP, gestantes que satisfaçam pelo menos as seguintes condições:

O.2.1.7.1.2.1 idade entre 18 e 36 anos 11 meses e 29 dias, inclusive, que tenham se submetido, no mínimo, a duas consultas pré-natais documentadas;

O.2.1.7.1.2.2 idade gestacional igual ou superior a 35 semanas, peso fetal igual ou superior a 2000 g, bolsa rota há menos de 18 horas, trabalho de parto sem anormalidade, ausência de processos infecciosos durante a gestação ou doenças que possam interferir com a vitalidade placentária;

### O.2.1.7.1.2.3 Critérios de Exclusão

São critérios de exclusão as seguintes condições:

O.2.1.7.1.2.3.1 sofrimento fetal grave;

O.2.1.7.1.2.3.2 feto com anormalidade congênita;

O.2.1.7.1.2.3.3 infecção durante o trabalho de parto;

O.2.1.7.1.2.3.4 temperatura materna superior a 38 °C durante o trabalho de parto;

O.2.1.7.1.2.3.5 gestante com situação de risco acrescido para transmissão de doença infecciosa transmissível pelo sangue;

O.2.1.7.1.2.3.6 presença de doenças que possam interferir com a vitalidade placentária;

O.2.1.7.1.2.3.7 gestante em uso de hormônios ou drogas que se depositam nos tecidos;

O.2.1.7.1.2.3.8 gestante com história pessoal de doença sistêmica auto-imune ou de neoplasia;

O.2.1.7.1.2.3.9 gestante e seus familiares, pais biológicos e seus familiares, ou irmãos biológicos do recém-nascido com história de doenças hereditárias do sistema hematopoético (doença falciforme, talassemia, deficiências enzimáticas, esferocitose, eliptocitose, anemia de Fanconi, porfiria, plaquetopatias, neutropenia crônica, outras doenças de neutrófilos), doença granulomatosa crônica,



imunodeficiência, demência, doenças neurológicas degenerativas, doenças metabólicas ou outras doenças genéticas.

O.2.1.7.1.2.4 A unidade de SCUP somente deve ser incorporada ao BSCUP e liberada para uso após a realização de exame médico da criança entre 2 e 6 meses de idade (idealmente aos 6 meses), época em que devem ser repetidos os testes para determinação de doença infecciosa transmissível pelo sangue em nova amostra do sangue materno.

O.2.1.7.1.2.5 O SCUP não deve ser aceito para uso se tiver um ou mais resultados reagentes, em qualquer teste, para doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue na amostra da mãe. No caso de citomegalovírus, devem ser descartadas as unidades em que a mãe tiver teste reagente para anticorpos de classe IgM.

O.2.1.7.2.1 A coleta deve ser feita, em sistema fechado, por médico ou enfermeiro treinado e capacitado, sob a responsabilidade do responsável técnico do BSCUPA. Todos os reagentes e materiais (agulhas, equipos e bolsas) utilizados na coleta e processamento, que mantêm contato com o SCUP, devem ser estéreis, apirogênicos e descartáveis, devendo ser registrados a respectiva origem e o número de lote.

O.2.1.7.2.3 O volume do SCUP coletado deve ser calculado a partir do peso líquido da coleta, assumindo  $1 \text{ ml} = 1 \text{ g}$ . O sangue coletado só pode ser aceito para processamento se a quantidade coletada for igual ou superior a 70 ml, excluído o anticoagulante, ou se o número total de células nucleadas for superior a  $5 \times 10^8$ .

O.2.1.7.2.4 O sangue coletado e rotulado deve ser armazenado temporariamente a temperatura de  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , (mais ou menos  $2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) até ser transportado para o laboratório de processamento do BSCUP. O tempo entre a coleta e o início de processamento não deve exceder 48 horas.

O.2.1.7.2.5 O transporte para o laboratório de processamento deve ser feito em caixa térmica que mantenha a temperatura interior entre  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $24 \text{ }^\circ\text{C}$ . A caixa térmica deve dispor de um sistema de monitoramento e registro da temperatura

interna, que acuse valores fora desses limites. Esse sistema deve ser validado pelo serviço.

O.2.1.7.4.1 a criopreservação deve ocorrer o mais precocemente possível. O tempo entre a coleta e a criopreservação não deve exceder 48 horas; durante esse período a unidade de SCUP coletada deve ser mantida a temperatura de 4 °C (mais ou menos 2 °C) até o processamento.